



TITLE:

# ウレアーゼ阻害剤による尿路結石の予防 第4報:新ヒドロキサム酸と 抗生剤セファレキシンの併用によるラット感染結石の治療

AUTHOR(S):

竹内, 秀雄; 友吉, 唯夫; 岡田, 裕作; 吉田, 修; 小橋, 恭  
—

CITATION:

竹内, 秀雄 ...[et al]. ウレアーゼ阻害剤による尿路結石の予防 第4報:新ヒドロキサム酸と  
抗生剤セファレキシンの併用によるラット感染結石の治療. 泌尿器科紀要 1983, 29(3):  
297-302

ISSUE DATE:

1983-03

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/120139>

RIGHT:

## ウレアーゼ阻害剤による尿路結石の予防

第4報 新ヒドロキサム酸と抗生剤セファレキシン  
との併用によるラット感染結石の治療

滋賀医科大学泌尿器科学教室（主任：友吉唯夫教授）

竹 内 秀 雄  
友 吉 唯 夫

京都大学医学部泌尿器科学教室（主任：吉田 修教授）

岡 田 裕 作  
吉 田 修

富山医科薬科大学薬学部衛生化学教室（主任：小橋恭一教授）

小 橋 恭 一

PREVENTION OF INFECTED URINARY STONES  
BY UREASE INHIBITORIV. TREATMENT OF INFECTION STONES IN RATS BY  
A NEW HYDROXAMIC ACID AND CEFALLEXIN

Hideo TAKEUCHI and Tadao TOMOYOSHI

*From the Department of Urology, Shiga University of Medical Science, Otsu Shiga, Japan  
(Director: Prof. T. Tomoyoshi, M.D.)*

Yusaku OKADA and Osamu YOSHIDA

*From the Department of Urology, Faculty of Medicine, Kyoto University, Kyoto  
(Director: Prof. O. Yoshida, M.D.)*

Kyoichi KOBASHI

*From the Faculty of Pharmaceutical Sciences, Toyama Medical and Pharmaceutical University, Toyama  
(Director: Prof. K. Kobashi, M.D.)*

We investigated the combined effectiveness of a new urease inhibitor, N-(pivaroyl)glycinohydroxamic acid, with Cefalexin in the treatment of infection stones in rats. Combination therapy with the hydroxamic acid and Cefalexin inhibited bladder stone formation, and dissolved the stone dose dependently, while separate therapy was not significantly effective against stone formation or bacterial growth.

This compound may become a useful medicine for the treatment of infection stones.

**Key words:** Urease inhibitor, N-pivaroylglcino-hydroxamic acid, Infection stone, Rat, Cefalexin

## 緒 言

感染結石はおもにリン酸マグネシウムアンモニウム (MAP, struvite) とリン酸カルシウム (CaP, apatite) よりなるが<sup>1,2)</sup>, その成因は *Proteus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella* などの尿素分解細菌の感染により高アンモニア尿症と尿アルカリ化が重要な要因とされる<sup>3,4)</sup>. これらの結石に対する治療は現在のところ, 外科的治療が主体であり, 手術後の再発も多く, 临床上重要な問題となっている. 結石の増大および再発は感染が持続するためであるが, これは現在使用されている抗生剤ではほとんど効果なく, 新しい治療法の開発が望まれている.

われわれはこれまでリン酸塩結石の予防に対し, ウレアーゼの特異的阻害剤であるヒドロキسام酸を用いさまざまな実験をおこない, その効果を検討してきた<sup>3,5-7)</sup>. 今回はさらに新しく合成された N-ピバロイルグリシノヒドロキسام酸 (N-pivaroylglycinohydroxamic acid, P-GHA) を用い, 抗生剤セファレキシン (CEX) との併用によるラット感染結石の増大抑制効果を検討したので報告する.

## 実験材料と方法

### 1. ウレアーゼ阻害剤

新ヒドロキسام酸 N-ピバロイルグリシノヒドロキسام酸 (P-GHA) は宗像ら<sup>8)</sup>により新しく合成され分与された. P-GHA の化学構造は Fig. 1 に示すが, その *Proteus mirabilis* 生菌のウレアーゼに対する 50% 阻害濃度は  $7.1 \mu\text{g/ml}$  で<sup>9)</sup>, 抗菌性は認められない<sup>10)</sup>.

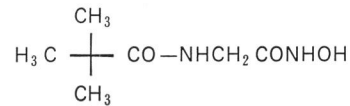


Fig. 1. N-(Pivaroyl)glycinohydroxamic acid (P-GHA)

### 2. ラット感染結石の作成

*Proteus mirabilis*  $10^8/\text{ml}$  浮遊の生理食塩水に小垂鉛片を浸し, これをラット膀胱内に挿入すると数日後には相当量の異物結石が形成され (Fig. 2), また同時に腎膿瘍や水腎症などの腎の病変がみられる. 用いた *Proteus mirabilis* は臨床分離株で, CEX の最小発育阻止濃度は  $25.0 \mu\text{g/ml}$  であった.

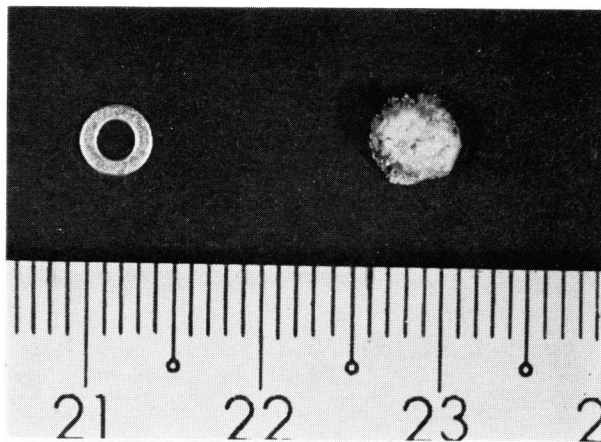


Fig. 2. Zinc disc and bladder stone

### 3. ラット感染結石に対する P-GHA および CEX の増大抑制効果

前述の感染結石モデルを用いて作成した *Proteus* 感染ラットを

対照群 A: 術後 5 日目にと殺

B: 術後 10 日目にと殺

薬剤治療群

CEX 単独—C (5 mg/kg/day), D (10 mg/kg)

E (100 mg/kg)

P-GHA 単独—F (100 mg/kg/day), G (200 mg/kg)

CEX と P-GHA 併用—H (CEX 5 mg/kg + P-GHA 100 mg/kg), I (CEX 10 mg/kg + P-GHA 100 mg/kg), J (CEX 10 mg/kg + P-GHA 200 mg/kg)

の各群にわけ, 薬剤は 5 日目より朝夕の 2 回分割強制経口投与し, 10 日目にと殺した. 各群につき尿 pH, 結石重量を比較し, 腎の肉眼的変化を観察し膀胱尿の

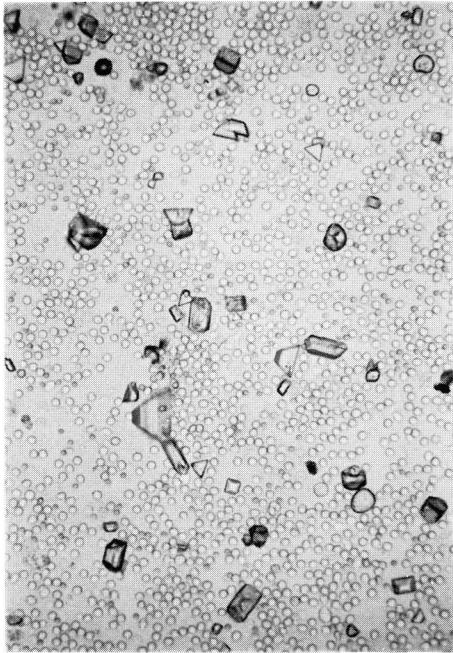


Fig. 3. Infected urine. MAP crystals, red blood cells and white blood cells are seen

培養をおこなった。

ラットは Wistar 系雄 200 g を用い、1 匹ずつ代謝

ケージ内で飼育し、飼料および水分は自由摂取とした。尿 pH 測定には 4 時間蓄尿し、pH メーター（トワ電波 HM-20E）にて測定した。尿培養は brain heart infusion agar での平板培養による定量またはウリカルト（第 1 化学薬品）による半定量をおこなった。摘出した結石は 24 時間ふ卵器にて乾燥した後、重量を測定し、総重量より異物重量を引いた値を結石重量とし比較した。

各群の比較検定には t-検定および Fisher の直接計算法を用いた。

なお薬剤投与群にて尿路感染成立の確認は術後 4 日目におこなった尿の検鏡にて白血球および MAP の結晶の出現によりおこなった (Fig. 3)。感染不成立ラットおよび途中死亡したものは除外したが、除外例は少数であった。

## 結 果

実験結果は Table 1 および Fig. 4 にまとめたとおりである。

感染ラットでは尿 pH は  $8.60 \pm 0.29$  (Mean  $\pm$  SD) と著明に上昇し、結石重量は 5 日目  $32 \pm 10$  mg となり、10 日目には  $70 \pm 25$  mg と増大した。

まず CEX 単独投与であるが、5 mg/kg/day 投与では尿 pH、結石重量ともほとんど対照群 B と差がな

Table 1. Combined effect of P-GHA with CEX on stone formation and bacterial growth

	No. of rat	Urine pH*	Stone Wt* (mg)	Hydronephrosis or Pyelonephritis (No. of rat)	Urine culture (No. of rat > 10 <sup>5</sup> )
Control					
A: 5 days	8	—	32 $\pm$ 10	8/8	8/8
B: 10 days	22	8.60 $\pm$ 0.29 (n = 10)	70 $\pm$ 25	21/22	22/22
Treated					
CEX					
C: 5 mg/Kg	9	8.07 $\pm$ 0.62	79 $\pm$ 38 <sup>B</sup>	7/9 <sup>B</sup>	9/9 <sup>B</sup>
D: 10 mg/Kg	13	7.80 $\pm$ 0.82*	38 $\pm$ 30**	8/13*	8/13*
E: 100 mg/Kg	10	6.27 $\pm$ 0.22** (n = 5)	7 $\pm$ 7**	0/10**	0/10**
P-GHA					
F: 100 mg/Kg	11	8.22 $\pm$ 0.62	61 $\pm$ 19	9/11	11/11
G: 200 mg/Kg	6	—	73 $\pm$ 35	6/6	6/6
CEX + P-GHA					
H: (CEX 5 mg/Kg P-GHA 100 mg/Kg)	12	7.46 $\pm$ 0.79**	38 $\pm$ 25**	4/12**	12/12
I: (CEX 10 mg/Kg P-GHA 100 mg/Kg)	14	7.15 $\pm$ 0.39**	34 $\pm$ 38**	3/14**	6/14**
J: (CEX 10 mg/Kg P-GHA 200 mg/Kg)	6	—	19 $\pm$ 9**	0/6**	5/6

\* Values represented as mean  $\pm$  standard deviation. Significant difference from the Control A or B

\* P < 0.05    \*\* < 0.01

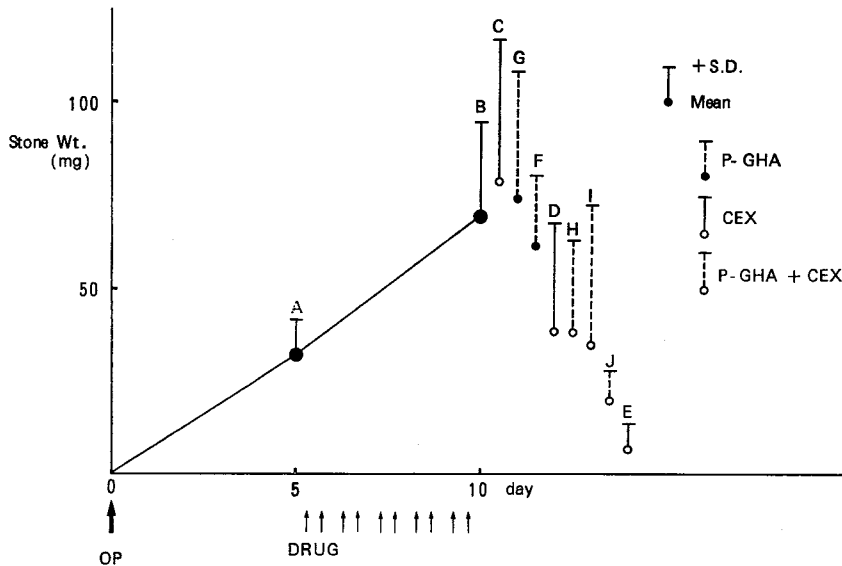


Fig. 4. Effect of P-GHA and CEX on stone formation

く、腎の感染や膀胱尿の培養も同様で治療効果はみられなかった。しかし 10 mg/kg では尿 pH  $7.80 \pm 0.82$  とやや低く、結石重量も対照群 B に対し有意に小さく、結石増大抑制がみられた。また感染に対する治療効果もいくらか認められた。CEX の大量投与 (100 mg/kg) では尿 pH は著明に減少し、結石重量もきわめて小さく、対照群 B に対してはもちろんのこと対照群 A に対しても有意の差がみられ、結石の増大抑制だけでなくむしろ結石は溶解したものと考えられた。また腎の異常も肉眼的にはほとんどみとめられず、尿培養でもほとんどが無菌であった。

P-GHA 100 mg/kg および 200 mg/kg の単独投与では結石重量および感染は対照群と差がみられず、これらの投与量では無効と考えられた。

しかし CEX と P-GHA の併用ではさまざまな効果がみられた。すなわち CEX 5 mg/kg と P-GHA 100 mg/kg 併用では、それぞれ単独では無効であるが、尿 pH および結石重量、腎の感染などに対照群 B と差がみられ、結石増大抑制が認められた。CEX 10 mg/kg P-GHA 200 mg/kg と併用では対照群 B および A に対し差がみられ、結石増大抑制だけでなく溶解効果も認められた。

なお尿量は各群それぞれ程差がなく、また形成された結石は赤外線分光分析によりすべて MAP が主成分であった。

## 考 察

N-ピバロイルグリシノヒドロキサム酸 (P-GHA) は

ウレアーゼ阻害力も強く、ラットに経口投与すれば 24 時間で約 11% が尿中にそのままの形で排泄され<sup>9)</sup>、われわれが効果の指標としている Effective Index

$$\left( \frac{24\text{時間回収率}\%}{150 (\mu\text{M})} \right)$$
 も比較的大で、また変異原性もなく有用な薬剤と考えられる<sup>10)</sup>。

P-GHA の結石予防効果についてはすでに報告した<sup>12,13)</sup>、今回はラット感染結石において P-GHA と抗生剤セファレキシン (CEX) との併用による治療効果を検討した。その結果、それぞれ単独では無効の投与量でも両者併用すると十分に結石増大抑制効果がみられ、腎の感染も抑えられた。また CEX の単独では結石増大抑制がみられる投与量で P-GHA を併用すればさらに結石溶解がみられた。

このような P-GHA と CEX との併用効果の機作は Fig. 5 に示すごとく互いに作用を増強するためではないかと考えられる。すなわち CEX のような細胞壁合成を阻害する抗生剤は直接殺菌的に作用することにもウレアーゼ阻害剤を細菌内へ移行しやすくするのではないかと考えられる。またウレアーゼ阻害剤はそれ自体抗菌力はないが、尿 pH を下げることにより抗生剤の活性を高めるのではないかと考えられる。また尿中アンモニア濃度を下げることにより腎機能障害を回復せしめ、尿中への抗生剤移行を促進するのではないかと考えられる。抗生剤とウレアーゼ阻害剤は両者互いに協力的に関係しあい、感染尿の正常化をきたし、これが結石の増大抑制や溶解に導くのではないと思われる。

ある種のヒドロキサム酸が抗生剤の作用を増強する

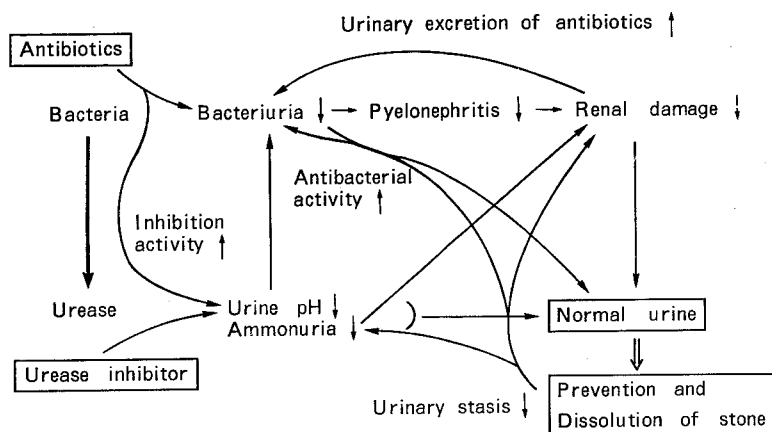


Fig. 5. Mechanism of combined effect of P-GHA and CEX on stone formation

との報告もあり<sup>12,13)</sup>, また Andersen<sup>14)</sup> は Benurestat を用い抗生剤との併用でわれわれと同様の結果を得ている。また臨床治験では Griffith ら<sup>15)</sup> はサンゴ状結石に対しアセトヒドロキサム酸と抗生剤との併用で無菌化および結石の縮小例を報告している。本実験において抗生剤 CEX の大量投与で感染の治癒および結石の溶解がみられたが、感染尿の無菌化（正常化）が持続してみられれば MAP 結石はじゅうぶんに溶解するものとも考えられる。

以上のことより P-GHA またはほかの強力なウレアーゼ阻害剤は感染結石に対し抗生剤との併用により感染尿の無菌化、結石の溶解の可能性が示唆された。P-GHA の臨床応用には今後さらに副作用などを検討する必要があるが、感染結石の治療に有用な薬剤になると思われる。

## 結 語

ラット感染結石に対しウレアーゼ阻害剤 N-ピバロイルグリシノヒドロキサム酸 (P-GHA) を抗生剤セフェキシム (CEX) との併用にて治療効果を検討した。

1. P-GHA は CEX との併用によって、それぞれ単独では効果のない投与量でも結石増大抑制効果がみられ、投与量を増やした場合には結石溶解もみられた。

2. CEX の大量投与により感染の抑制および結石溶解効果がみられた。

3. MAP 結石は感染尿が正常化されれば溶解しうると考えられた。

4. P-GHA あるいはほかの強力なウレアーゼ阻害剤は適当な抗生剤との併用により結石増大抑制だけでなく、結石の溶解および尿路感染の治癒の可能性が示

唆された。

なお、本論文の要旨は第68回（1980年）、第69回（1981年）日本泌尿器科学会総会において発表した。

## 文 献

- 1) Nemoy NJ and Stamey TA: Surgical, bacteriological and biochemical management of "Infection stones". JAMA 215: 1470~1476, 1971
- 2) 竹内秀雄・高山秀則・友吉唯夫・岡田裕作・桐山啓夫・吉田 修: 感染結石における結石内細菌と結石構築について. 第70回日本泌尿器科総会予稿集, 1982
- 3) 竹内秀雄・高橋陽一・吉田 修・小橋恭一: ウレアーゼ阻害剤による尿路結石の予防 第1報 感染尿とウレアーゼ阻害剤. 泌尿紀要 22: 115~120, 1976
- 4) Griffith DP, Musher DM and Itin C: Urease: The primary cause of infection-induced urinary stones. Invest Urol 13: 346~350, 1976
- 5) 竹内秀雄・吉田 修・小橋恭一・竹部幸子・長谷純一: ウレアーゼ阻害剤による尿路結石の予防 第2報 ヒドロキサム酸の尿中排泄とラット膀胱結石の形成防止効果. 泌尿紀要 23: 113~118, 1977
- 6) 竹内秀雄・大石賢二・吉田 修・小橋恭一・竹部幸子・長谷純一: ウレアーゼ阻害剤による尿路結石の予防 第3報 新ヒドロキサム酸誘導体によるウレアーゼ阻害と膀胱結石形成の防止. 泌尿紀要 24: 21~26, 1978
- 7) Takeuchi H, Kobashi K and Yoshida O: Prevention of infected urinary stones in rats

- by urease inhibitor, a new hydroxamic acid derivative. *Invest Urol* **18**: 102~105, 1980
- 8) Munakata K, Tanaka S and Toyoshima S: Therapy for urolithiasis with hydroxamic acid. I. *Chem Pharm Bull* **28**: 2045~2051, 1980
- 9) Munakata K, Kobashi K, Takebe S and Hase J: Therapy for urolithiasis by hydroxamic acids. III. Urease inhibitory potency and urinary excretion rate of N-acylglycinohydroxamic acid. *J Pharm Dyn* **3**: 451~456, 1980
- 10) Satoh M, Munakata K, Kitoh K, Seto N, Kanazawa T, Takeuchi H and Yoshida O: Therapy for urolithiasis with hydroxamic acids. IV. Prevention of infected urinary stone formation with N-(pivaroyl)glycinohydroxamic acid. *J Pharm Dyn* **4**: 469~474, 1981
- 11) Takeuchi H, Okada Y, Kobashi K and Yoshida O: Treatment of infection urinary stones in rats by a new hydroxamic acid, "N-(pivaroyl)glycinohydroxamic acid". *Urol Res* **10**: 217~219, 1982
- 12) Musher DM, Saenz C and Griffith DP: Interaction between acetohydroxamic acid and 12 antibiotics against 14 gram-negative pathogenic bacteria. *Antimicrob Ag Chemother* **5**: 106~110, 1974
- 13) Gale GR: Urease activity and antibiotics sensitivity of bacteria. *J Bacteriol* **91**: 499~506, 1966
- 14) Andersen JA: Benurestat, a urease inhibitor for the therapy of infected ureolysis. *Invest Urol* **12**: 381~386, 1975
- 15) Griffith DP, Moskowitz PA and Carlton JR CE: Adjunctive chemotherapy of infection-induced staghorn calculi. *J Urol* **121**: 711~715, 1979

(1982年11月9日受付)